Der Perniciosa-Schutzstoff

vorgelegt von

Franz Groll

München

München 1940

Druck: Buchdruckerei u. Verlagsanstalt Niedermayer & Miesgang, Neuötting a. Inn

Der Perniciosa-Schutzstoff

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer

Hohen Medizinischen Fakultät der Bayerischen
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Franz Groll

München

München 1940

Druck: Buchdruckerei u. Verlagsanstalt Niedermayer & Miesgang, Neuötting a. Inn

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Dekan:
Professor Dr. med., Dr. phil. A. Dabelow

Referent:
Professor Dr. med. Hahn

Tag der mündlichen Prüfung:
16. 7. 1940

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Der Perniciosa-Schutzstoff

Die Leberdiättherapie der perniciösen Anämie war Anlaß, über den Perniciosa-Schutzstoff sowohl theoretische Vermutungen, als auch praktische, experimentelle Untersuchungen anzustellen.

Den Ausgangspunkt bildeten die Untersuchungen von Whipple und Robscheid, die durch Verfütterung von Leber eine Reizwirkung auf die Blutbildung künstlich anämisierter Hunde gefunden hatten. Diese Ergebnisse veranlaßten die beiden Amerikaner Minot und Murphy, 1926 die Leberbehandlung der perniciösen Anämie einzuführen. Allerdings haben schon vor ihnen Fenlon, Gibson, sowie Castellan die Leberkost bei Anämie verordnet, aber anscheinend in unzureichender Dosierung. Kurze Zeit später entdeckten dann Castle und seine Mitarbeiter in normalem Magensaft einen endogenen („intrinsic") Faktor, dem sie einen in verschiedenen Nahrungsmitteln (Fleisch, Eidotter, Hefe) enthaltenen exogenen („extrinsic") Faktor gegenüberstellten. Beide Faktoren zusammen bildeten den antianämischen Stoff.

Singer hat diese Zusammenhänge in folgendem Schema zum Ausdruck gebracht:

Exogener Faktor · endogener Faktor
= Perniciosa-Schutzstoff.

Bei der perniciösen Anämie handelt es sich also um das Fehlen dieses Schutzstoffes, der wichtige regulatorische Funktionen bei der Blutbildung zu erfüllen hat. Jedoch dürfte neben den exogenen Faktoren, die an der Entstehung beteiligt sind, auch die Heredität eine Rolle spielen, da nach den Angaben von Naegeli die Erkrankung in 8 % der Fälle und nach Gänsslens Untersuchungen sogar in 18 % der Fälle familiär nachweisbar ist. Vielleicht liegt ein erblich bedingtes Fehlen des endogenen Faktors zu Grunde.

Durch die Einführung der Organ-Lebertherapie konnten bei angemessener Dosierung die hämathologischen Blutbildveränderungen der perniciösen Anämie beeinflußt werden, sodaß der

perniciöse Charakter dieser Krankheit beseitigt oder wesentlich gemildert wurde.

Biermer und Addison haben dieses Krankheitsbild der perniciösen Anämie von den anderen sekundären Anämien als besonders charakteristisch herausgehoben. Sie unterscheidet sich dadurch, daß bei ihr die Zahl der roten Blutkörperchen stärker sinkt als der Gehalt an Blutfarbstoff und daß infolgedessen der Färbeindex über 1 erhöht ist. Die Erythrocyten gehen in erhöhtem Maße zugrunde, sodaß das Abbauprodukt des Blutfarbstoffes, das Bilirubin im Serum über den normalen Grenzwert von 6 mgr % vermehrt ist. Die roten Blutkörperchen unterscheiden sich auch in morphologischer Beziehung von denen eines gesunden Menschen. Es tritt regelmäßig Anisocytose, Megalocytose, Poikylocytose und Polychromasie der Ery auf, deren Durchmesser über den normalen Wert von 7,3 μ bis 7,7 μ erhöht ist.

Auch kernhaltige Vorstufen, die sogenannten Megaloblasten, sind bisweilen im strömenden Blut vorhanden, sodaß es sich um einen Rückschlag der Blutbildung zum embryonalen Typ handeln dürfte. Ebenso ist die Zahl der weißen Blutkörperchen vermindert, es besteht eine Leukopenie mit relativer Lymphocytose. Da auch die Bildung der Blutplättchen gehemmt ist, tritt in schweren Fällen eine Trombocythopenie auf, die sich in hämorrhagischer Diathese äußern kann.

Neben diesen Blutbildveränderungen sind regelmäßig Störungen des Verdauungsstraktus beteiligt. Wir finden immer gemeinsam eine Achylie des Magensaftes und pathologische Besiedlung des Magens und Blinddarms mit Bakterien. Sehr häufig ist die Hunter'sche Glossitis zu beachten, in manchen Fällen findet sich ein mäßiger Milztumor. Im weiteren Verlauf des Krankheitsbildes kommen Störungen des zentralen Nervensystems hinzu, die sich in einer kombinierten Erkrankung der Seiten- und Hinterstränge des Rückenmarkes auswirken und in schweren Fällen eine spastische Parese der Beine und Blasen-Mastdarmlähmung im Gefolge haben.

Bei der Trias des Symptomenbildes wurden die verschiedensten Ursachen dieser merkwürdigen Erkrankung vermutet. Man versuchte Ätiologie, Pathogenese der perniciösen Anämie und Leberwirkung in Zusammenhang zu bringen. Perniciosaähnliche Krankheitsbilder, deren Ursachen bekannt waren, veranlaßten manche Forscher zu vielfachen Theorien über den Perniciosa-Schutzstoff. Andere Autoren dagegen stellten Hypothesen auf, indem sie das Wesen des Lebereffektes und die Analyse der Blutumsatzvorgänge erörterten.

So führte die wissenschaftliche Bearbeitung der Wirkung der Lebertherapie zum Studium einer Knochenmarksreaktion: Der Retikulocytenkrise. Retikulocyten sind jugendliche, unreife Erythrocyten, die sich von den reifen Ery durch den Nachweis einer retikulo-filamentären Struktur bei der supravitalen Färbung unterscheiden lassen. Im Knochenmark sind die retikulierten Normocyten ständig auffindbar, dagegen ist ihre Zahl im normalen Blut relativ gering. Die verschiedenen prozentualen Zahlenangaben 1 — 3, 7 — 26 % rühren davon her, daß nicht unerhebliche (Riddle) Tagesschwankungen der Retikulocyten im strömenden Blut festgestellt und nach der Dichte des Retikulums (Heilmeyer), also des Reifegrades, unterschieden wurden. In der Strombahn reifen die aus dem Knochenmark eingeschwemmten Vitalgranulierten in 1—2 Tagen aus. Die Menge der zirkulierenden Retikulocyten ist sicher ein gewisses Maß für die ständige Blutregeneration, doch darf man neben der Quantität nicht die Qualität bei der Beurteilung des Umfanges der Blutproduktion vergessen. Bei der perniciösen Anämie finden wir im Blut unternormale Retikulocytenwerte, während in den erythropoetischen Werkstätten eine lebhafte Neubildung stattfindet. Es besteht demnach eine Dissoziation zwischen Ausschwemmung und Zellproduktion im Knochenmark, welchen Zustand man als „Knochenmarkssperre" bezeichnet hat. Diese Erkenntnis ermöglicht nun ein weiteres Verständnis der Wirkung des Perniciosa-Schutzstoffes, denn gerade durch die Zufuhr von Leber wird die Blockierung aufgehoben, als Antwort des Knochenmarks erfolgt die Retikulocytenkrise.

Der Bostoner Hämatologenschule (Minot, Cohn, Murphy, Lawson) gebührt die Anerkennung, dieses biologische Phänomen erprobt und seine Gesetzmäßigkeiten erfaßt zu haben. Der Ablauf der Retikulocytenkrise ist abhängig

1. von der Menge der verabreichten wirksamen Substanz,
2. von der Anzahl der zirkulierenden Erythrocyten vor Anfang der Therapie.

Bei genügender Zufuhr von Perniciosa-Schutzstoff erfolgt mit großer Regelmäßigkeit die Retikulocytenkrise, zwischen 3. und 9., meist auch 5. Tag steigt die Zahl der Vitalgranulierten an, erreicht ihr Maximum und sinkt langsam nach 15—20 Tagen zur Norm ab.

Bei unzureichender Gabe wird die Kurve flacher und die Maximalausschwemmung erfolgt später. Je kleiner der Erythrocytenwert ist, desto größer ist auch die maximale Retikulocytenzahl

während der Krise. Aban hat diese Erscheinungen in mathematischen Relationen zwischen Eryzahl vor der Behandlung der Menge Ery auf der Höhe der Kurve und der überhaupt erreichten maximalen Prozentzahl der Retikulocyten ausgedrückt, nach ihm hat Riddle durch Aufstellung einer Formel es ermöglicht, im voraus das zu erwartende Maximum bei optimaler Dosis zu berechnen. Außer Leber wurde auch bei Gabe von Arsen und z. B. durch Hirnstich beim Kaninchen in das Diencephalon eine Retikulocyten-Ausschwemmung beobachtet. Die Knochenmarkssperre bei der perniciösen Anämie wird jedoch durch Perniciosa-Schutzstoff in ganz anderer Weise aufgehoben, als durch etwaige andere Substanzen. Vollstes Verständnis kann nur durch das gleichzeitige Studium der Wirkung des Perniciosa-Schutzstoffes auf Knochenmarksproduktion bei dieser Erkrankung in Zusammenhang mit der Retikulocytenkrise erreicht werden.

Durch den Perniciosa-Schutzstoff bei der Lebertherapie konnten auch die vorher besprochenen qualitativen Veränderungen des Blutbildes günstig beeinflußt werden. Durch Knochenmarkspunktion am lebenden Menschen wurden die morphologische Struktur und die Umwandlung desselben beobachtet. Die Produktionsstätten, das rote Knochenmark zeigten eine starke Hyperplasie des erythropoetischen Gewebes, doch erfährt auch das leukopoetische System eine pathologische Umwandlung. Im Blutbild äußert sich dieser Zustand in dem bekannten Rückschlag der Blutbildung in frühembryonale Bahnen. Man sprach von einem „Sistieren der Erythropoese" auf einer indifferenten Entwicklungsstufe, das perniciosakranke Knochenmark zeigt eine geringe Tendenz der unreifen Zellen zur weiteren Differenzierung. Die Knochenmarksschädigung ist bei jedem Fall verschieden, je weniger differenzierte Zellen ins Blut gelangen, desto mehr undifferenzierte Formen sind in den Produktionsstätten eingeschlossen. Riddle äußerte darüber, „die Hyperplasie des Markes verhält sich umgekehrt proportional zur Zahl der zirkulierenden Erythrocyten".

Durch die Lebertherapie konnte eine schlagartige Differenzierung des Blutbildes festgestellt werden, es tritt eine völlige Umwandlung des pathologischen Knochenmarkes ein, die Hyperplasie bildet sich zurück. Diese plötzliche Beeinflussung kann eben nur so gedeutet werden, daß durch den Perniciosa-Schutzstoff ein Reifungsstoff zugeführt wird, der die unreifen Elemente im Blutbild weiter differenziert, ausschwemmungsfähig macht und zur Aufhebung der Knochenmarkssperre führt. Die

Knochenmarksblockierung ist demnach eine Folge der durch den Mangel an Perniciosa-Schutzstoff entstandenen Reifungsstörung (Singer). So beginnen unter der Einwirkung des Perniciosa-Schutzstoffes während der Retikulocyten-Ausschwemmung der Hb-Gehalt und Eryzahl anzusteigen bis zu normalen Werten, quantitativ und qualitativ kehrt das pathologische Blutbild wieder zum gesunden Status zurück.

Alle diese klinischen und biologischen Beobachtungen veranlaßten die Forschung zu tierexperimentellen Versuchen, um die Theorien und Erfahrungen über den Perniciosa-Schutzstoff zu stützen. Die Analyse der Blutumsatzvorgänge und des Lebereffektes legte den Grund zu 2 Theorien der Erythropoese-Reiztheorie und Erythrolyse-Hemmungstheorie.

Erstere glaubte an einen Reizeffekt der Lebertherapie auf das Knochenmark. Man deutete zu anfangs die Leberwirkung als den Erfolg eines Reizmittels des erythropoetischen Systems. Verschiedene Forscher erprobten diese Therapie deswegen nicht allein beim Morbus Addison-Biermer, sondern auch bei anderen Anämietypen. Die Ergebnisse waren aber durchwegs sehr widerspruchsvoll und verwirrend. Oft wurden aufgrund von falschen Diagnosen fehlerhafte Schlußfolgerungen gezogen, trotzdem aber verdanken wir diesen Untersuchungen wertvolle Feststellungen. So z. B. gelang der Nachweis, daß auch die „symptomatischen Formen" der Perniciosa durch Perniciosa-Schutzstoff beeinflußt werden. Man erkannte, daß die Lebertherapie bei Botriocephalus latus Perniciosa in gleicher Weise wirkte wie die Abtreibung des Bandwurmes selbst oder bei der Graviditätsperniciosa, wie die Unterbrechung der Schwangerschaft auf operativem Wege. Bei auf Eisenmangel beruhenden Anämietypen ist die ausschließliche Lebertherapie nutzlos. Vereinzelt konnten Perniciosafälle durch Schutzstoff nur auf subnormale Blutwerte gebracht werden, die dann auf Eisengaben erst eine Remission ergaben. Bei diesen Fällen muß ein Eisenmangel angenommen werden, der durch die Eisenresorptionsstörungen vom Magendarmkanal (Achylie) bedingt sein dürfte. Bei der Bewertung der Perniciosa-Schutzstoffwirkung muß also vor allem auf den Anämietypus geachtet werden, da sonst die abweichendsten und unzutreffendsten Urteile entstehen. Beim Morbus-Biermer bedarf die Eryproduktion keines Anreizes, sie ist im Vollstadium der Erkrankung auf das Höchste angespannt. Dies zeigt sich in einer beträchtlichen Ausdehnung der erythropoetischen Werkstätten, die durch eine vermehrte Erzeugung die biologisch minderwertige Beschaffenheit der megalo-

cytären Zellen zu kompensieren versuchen. Erst die Zufuhr von Perniciosa-Schutzstoff als Reifungsstoff bewirkt die Bildung von normalen Blutkörperchen, das erythropoetische Gewebe kehrt dann zu seiner ursprünglichen Ausdehnung zurück. Durch diese Feststellung dürfte die Bedeutung der Erythropoese-Reiztheorie wesentlich beeinträchtigt sein, infolgedessen versuchten andere Autoren den Lebereffekt durch die Erythrolyse-Hemmungstheorie zu erklären.

Die Zufuhr von Perniciosa-Schutzstoff verursacht beim Morbus-Biermer eine durchgreifende Normalisierung der qualitativ veränderten Eryproduktion. Zugleich wird der in hohem Grade überdimensionierte Blutabbau in normale Ausmaße übergeleitet. So glaubte man, daß die durch Perniciosa-Schutzstoff gehemmte Erythrolyse sekundär die Funktion des erythropoetischen Systems wieder herstellt. Man betrachtete also die verstärkte Hämolyse als das Wesen der Erkrankung. Singer, Lichtenstein und Landsberg studierten in langfristigen Beobachtungen den Einfluß der Leberdiät beim Gesunden und ermittelten dabei eine beträchtliche Vermehrung der Farbstoffausscheidung. Somit führt Volleber zu einer Zunahme der Hämolyse. Gleichzeitig erfolgt aber eine Steigerung der Erythropoese, sodaß die Volleberdiät überhaupt eine Hebung des Blutumsatzes auf ein höheres Niveau verursachen dürfte. Bei diesen Versuchen wurde auch ein differenter Effekt der Volleber und des Perniciosa-Schutzstoffes festgestellt. Peroral verabreichte bei der perniciösen Anämie wirksame und der verwendeten Vollebermenge entsprechend dosierte Leberextraktzufuhr läßt beim normalen Menschen die Farbstoffausfuhr vollkommen unbeeinflußt (Singer). Die Steigerung der Blutmauserung durch die Volleber wird somit nicht durch den Perniciosa-Schutzstoff hervorgerufen. Der Perniciosa-Schutzstoff hat eine ganz spezifische Wirkung nur bei der perniciösen Anämie, da er nur bei dieser Erkrankung zu einer Hemmung der verstärkten Erythrolyse führt, während er sonst eine Steigerung des Abbauprozesses veranlaßt. Heilmeyer spricht sogar von einer „paradoxen Leberwirkung" beim Morbus Addison Biermer. So wird wahrscheinlich der Perniciosa-Schutzstoff mit der Retikulocyten-Ausschwemmung gleichzeitig eine Hemmung der Blutzerstörung einleiten, beide Prozesse werden synchron ablaufen. Der Nachweis, daß die Sistierung des Eryzerfalles vor der Einwirkung des Perniciosa-Schutzstoffes auf das Knochenmark zustande kommt, ist der Wissenschaft nicht gelungen.

Singer brachte zur weiteren Erklärung die Symptome der Perniciosa-Schutzstoff-Wirkung im Einklang mit der Erythro-

poese- und Erythrolyse-Theorie. Der Rückschlag in den embryonalen Typus bei der perniciösen Anämie, hervorgerufen durch den Mangel an Reifungsstoff, verursacht die Ausschwemmung von biologisch minderwertigen roten Blutkörperchen, die eine kurze Lebensdauer haben. Der schnelle Zerfall muß aber gleichzeitig zu einer Steigerung der den gesamten Blutfarbstoff verarbeitenden Stoffwechselprozessse führen, was sich in einer Ausdehnung der erythropoetischen Werkstätten äußert. Durch Perniciosa-Schutzstoff werden nun wieder biologisch wertvolle Erythrocyten gebildet, zugleich muß auch die Beanspruchung des blutzerstörenden Systems wieder in normale Bahnen zurückkehren.

Versuchten die Erythropoese-Theorie und Erythrolyse-Hemmungs-Theorie den Lebereffekt mit dem Blutumsatz in Zusammenhang zu bringen, so brachten andere Autoren verschiedene Theorien mit der Ätiologie und Pathogenes der perniciösen Anämie in Übereinstimmung. Ein besonderes Argument dafür war die von Runeberg, Schaumann u. s. ermittelte vollkommene Übereinstimmung der klinischen und pathologisch-anatomischen Befunde bei den schweren Bothriocephalusanämien und der kryptogenetischen Perniciosa. So machten viele Forscher als Ursache der Krankheit ein Toxin verantwortlich, da nach Abtreibung des Bandwurmes die Krankheits-Symptome vollständig zurückgehen. Man nahm auch für alle anderen Perniciosaformen eine toxische Genese an, z. B. bei Gravidität Darmstenose. Trotz der sehr differenten ätiologischen Faktoren entwickelt sich das Krankheitsbild immer in der gleichen Weise und so kommt Naegeli auch vom Standpunkt der Toxintheorie aus zu der Auffassung, daß bei der perniciösen Anämie immer eine gleichartige Störung des Knochenmarkes vorhanden sein muß. Die Erkrankung stellt demnach eine pathogenetische und klinische Einheit dar, die aber durch eine ätiologische Vielheit ausgelöst werden kann. Naegeli bringt den Vergleich mit der Herzmuskel-Insuffizienz, die aus den verschiedensten Ursachen entstehen kann, wobei sich aber letzten Endes immer gleiche Symptomenkomplexe ergeben.

Über die Beziehungen zwischen Perniciosa-Schutzstoff und Perniciosa-Toxinen bestehen die verschiedensten Ansichten, sodaß es zuweit führen würde an dieser Stelle darauf näher einzugehen. Die Vertreter der Toxintheorie lehnen überhaupt jede physiologische Funktion des Perniciosa-Schutzstoffes ab, der therapeutische Lebereffekt soll nur auf einer „Entgiftung" durch die wirksame Substanz beruhen, auf einer Neutralisierung des betreffenden Perniciosa-Toxins.

Einen Beweis für das Vorhandensein des Perniciosa-Toxins versuchte D. L. Macht mittels seiner phyto-pharmakologischen Untersuchungsmethode zu erbringen. Er verglich das Wachstum von Lupinus albus-Keimlingen in einer 50%igen Shivelösung mit der Längenzunahme dieser Pflanzenkeime in einer gleichartigen Nährflüssigkeit, der aber Serum von normalen oder kranken Personen zugesetzt worden war. Schon normales Serum hemmt die Keimentwicklung, Serum von Perniciosakranken soll nun diese Hemmung noch verstärken. Das Verhältnis dieser Wachstumsgrößen zueinander wurde von ihm als „phytotoxischer Index" bezeichnet, diese Hemmungswirkung auf das Wachstum wird nun dem Perniciosatoxin zugeschrieben. Bei normalem Serum finden wir schon einen Index von 73—75, perniciosakrankes Serum bewirkt einen Index von unter 50. Doch fand diese Behauptung Macht's vom Nachweis des Perniciosatoxins starke Entgegnungen und die Tatsache, daß auch bei anderen Erkrankungen wie Cholelithiasis, Anämie diese Hemmungswirkung erscheint und bei der perniciösen Anämie nicht immer Werte unter 50 vorhanden sind, machen sie unhaltbar.

Andere Vertreter der Toxintheorie sprechen von einer gastrointestinalen Intoxikation, es sollte der pathologischen Dünndarmbesiedlung mit einer sehr dichten Bakterienflora eine ätiologische Bedeutung zukommen. Die darüber angestellten Untersuchungen erwiesen ebenfalls, wie unbegründet diese Theorien waren, lediglich bot dafür eine gewisse Stütze die Tatsache, daß manchmal bei Darmstrikturen eine „symptomatische" perniciöse Anämie entstehen kann, die mit der Beseitigung der Stenose auf operativem Wege verschwindet. Es sollen infolge Zersetzung des Darminhaltes oberhalb der Stenose hämotoxische Stoffe dabei resorbiert werden. Die von Tönnis, Horster, Singer gemachten Versuche, indem sie bei Hunden Dünndarmblindsäcke anlegten, ergaben zwar, daß bei chronischen Darmstauungen eine schwere Blutarmut durch Toxinresorption entstehen kann. Das Blutbild und die pathologischen Veränderungen entsprachen aber noch in keiner Weise dem Krankheitsbild des Morbus Biermer, sodaß auch diese Experimente nicht als voller Beweis für eine toxische Genese der perniciösen Anämie angesehen werden dürfen.

Viele Forscher versuchten weiterhin im Bann der Toxintheorie die Wirkung der Leber bei der Bartonellen-Anämie der Ratten zu erproben. Diese Anämie (Lauda) tritt erst nach Milzextirpation auf, sie hat also mit der Erkrankung des Menschen in Bezug auf Entstehung und Symptomatologie nichts gemeinsam als nur den gleichen Namen. Der Milz wird hierbei eine hor-

monelle Funktion zugeschrieben, welche die erkrankten Tiere vor dem Ausbruch der Anämie schützen soll. Doch hauptsächlich angeregt wurde dabei die Forschung durch die Entdeckung der Erythrokonten Schillings. Diese treten beim Morbus Biermer auf, sie stellen stäbchenförmige, den Bartonellen ähnliche Erythrocyteneinschlüsse dar und wurden von Schillings als die Erreger der menschlichen Perniciosa angesehen. Man fand diese Gebilde auch bei Leukämien, Diabetes mellitus und Bleivergiftung. Andere Autoren teilten aber nicht die Ansicht Schillings, sie halten diese Erythrokonten nicht für bartonellengleiche Gebilde, sondern sehen darin eine Darstellung von Erythrocytenstrukturen, Schroeder vermutet in ihnen Residuen der Zellkerne, jedenfalls werden sie nicht als die Ursache der Perniciosa betrachtet. Unter dem Einfluß der Lebertherapie verschwinden diese menschlichen „Bartonellen". Man hat nun den Einfluß der Leberzufuhr auf die echte Bartonellenanämie der Ratte in vielen Versuchen geprüft und ist zu der Feststellung gekommen, daß nach parenteraler Applikation die Eryausschwemmung bei der Ratte zwar gefördert wird, allein die Entwicklung und der Ausgang dieser Anämie doch vorwiegend vom Ausmaß der Infektion abhängig ist. Ein „antiinfektiöser" Einfluß der Leberextrakte war also nicht feststellbar.

Ucko hat experimentell mit Saponininjektionen bei Tieren eine Anämie erzeugt, die der menschlichen Perniciosa sehr ähnlich ist. Es gelang ihm weiter, aus dem normalen menschlichen Blut einen Stoff von saponinartiger Beschaffenheit zu isolieren, der gerade beim Morbus Biermer im Gegensatz zu anderen Krankheiten in vermehrtem Maße gefunden wurde. Dieses Menschensaponin Tieren einverleibt bewirkte ein gleichartiges Blutbild wie bei der Verabreichung von Pflanzensaponine. Dem Blutserum kommt nun eine ausgesprochene Schutzkraft gegen die hämolytische Wirkung der Saponine zu, die doch beim Morbus Biermer mehr oder weniger herabgesetzt ist. Das Substrat dieser Schutzkraft bildet vor allem der Cholesteringehalt des Serum. Bei der Perniciosa ist der Cholesteringehalt und eben der Lipoidphosphorspiegel des Blutes erniedrigt, welcher Zustand bei Zufuhr von Perniciosa-Schutzstoff wieder normale Werte erreicht. In diesem Zusammenhang glaubte man den „Entgiftungsmechanismus" des hypothetischen Perniciosatoxins entdeckt zu haben. K. Meyer hat gefunden, daß auch das Erycholestrin die Saponinhämolyse hemmt und die Ery umso resistenter sind, je mehr Cholesterin sie enthalten. Die Ery der Perniciosa haben nun eine sehr geringe Widerstandskraft gegen Saponine, als ein charakteristisches Zeichen

gerade für den Morbus Biermer einhergehend mit einer normalen Resistenz gegen Kochsalz. Umgekehrt ist es beim hämolytischen Ikterus: Normale Saponine- und verringerte Kochsalz-Resistenz. Unter Lebertherapie nun verschwindet auch dieses Symptom, es geht daraus hervor, daß beim Morbus Biermer schon primär der Aufbau der Ery pathologisch verändert sein muß und nicht erst sekundär ein Zerfall durch ein Toxin bewirkt wird (Singer).

Die Auffassung, die perniciöse Anämie als eine Art Mangelkrankheit anzusehen, hat auch dazu Veranlassung gegeben, diese Erkrankung auf das Fehlen eines oder mehrerer Vitamine zurückzuführen. Die Blut- und Magendarmveränderungen der Perniciosa sollen z. B. auf dem Nichtvorhandensein des A-Vitamins, die nervösen Symptome auf dem Fehlen des B-Vitamins und die Neigung zu Hämorrhagien auf dem Mangel an C-Vitamin beruhen. Allerdings ist die Volleber sehr vitaminreich und es erscheint möglich, daß diese Substanzen eine Rolle spielen. Rosenow versuchte deshalb die Wirkung der Leberdiät durch gleichzeitige Verabfolgung von bestrahlten Ergosterin zu verbessern, ohne nennenswerten Erfolg. Die Vitamine A, D und E können jedoch mit dem Perniciosa-Schutzstoff nicht identisch sein, weil sie nur mit Fettlösungsmitteln extrahierbar sind, während der beim Morbus Biermer wirksame Leberstoff wasserlöslich ist (Cohn, Minot). Auch der C-Stoff ist auszuschließen, denn der Meerschweinchenskorbut wird durch Perniciosa-Schutzstoff enthaltende Leberextrakte nicht beeinflußt. Über die Zusammenhänge mit dem B-Vitamin soll später noch näher eingegangen werden. Nach längerer Zufuhr von B-Stoff wurde bei Perniciosa nicht der Blutstatus erreicht, wie nach Verabfolgung von Perniciosa-Schutzstoff in Form von Leberextrakten, sodaß daraus der Schluß gezogen werden kann, daß diese beiden Substanzen nicht identisch sein dürften.

Auch hormonellen Charakter wollte man dem Perniciosa-Schutzstoff zuschreiben, da besonders kleine Mengen dieses Stoffes zur Beseitigung der Anämie führen, doch könnte diese Tatsache ebenso die Annahme eines Vitamins rechtfertigen. Daß die Blutbildung, vielmehr die Ausschwemmung hormonal gesteuert wird und besonders die Thyreoida daran beteiligt ist, ist heute mehr als wahrscheinlich. Der Perniciosa-Schutzstoff scheint hierbei mit dem Thyroxin eine synergetische Wirkung zu teilen. Über die Bildungsstätte des „Hormons" aber konnte kein Anhaltspunkt gefunden werden, Means—Richardson haben gegen die Theorie einzuwenden, daß diese Substanz in vielen Organen vorkommt, ein Verhalten, welches sonst den Hormonen nicht zusteht.

Experimentelle Ergebnisse über den Perniciosa-Schutzstoff

Mit Hilfe der verschiedenen Theorien ist es nicht gelungen, die Wirkung der Leberdiät beim Morbus Addison Biermer eindeutig auf schon bekannte Stoffe oder auf schon erkannte Funktionsstörungen zurückzuführen.

Ganz neue Anschauungen wurden zur Erklärung der Zusammenhänge über den Perniciosa-Schutzstoff von Castle und seinen Mitarbeitern angebahnt. Wie schon erwähnt, äußert sich das perniciöse Krankheitsbild beim Morbus Biermer nicht nur in den pathologischen Knochenmarksproduktionen, sondern auch in Funktionsstörungen anderer Organe, wie des Verdauungstraktus oder Rückenmarks. Das auffälligste Symptom der perniciösen Anämie ist die Achylia gastrika, die sich fast immer histaminrefraktär benimmt, was die Unfähigkeit der Magendrüsen Pepsin-Salzsäure abzusondern beweist.

Castle verabreichte einer gesunden Person 300 g Rindsmuskel und heberte nach einer Stunde den verdauten Inhalt aus, dieser Speisebrei wurde dann mittels einer Nasensonde dem Kranken einverleibt und darnach Blutbefund (Retikulocyten-Ausschwemmung) beobachtet. Es kam dabei zu einem Anstieg der Ery und des Hb, als ob eine richtige Lebertherapie eingeleitet worden wäre. Künstliche Verdauung im Brutschrank hatte die gleiche Wirkung. Da die Leberwirkung bei der Perniciosa auf dem Gehalt dieses Nahrungsmittels an Perniciosa-Schutzstoff beruht, so war der Schluß berechtigt, daß in dem Speisebrei diese Substanz enthalten sei. Es zeigte sich in den weiteren Versuchen, daß Fleisch oder Magensaft allein oder zu verschiedenen Tageszeiten verabreicht ohne jede Wirkung waren. Castle fand ferner, daß Magensaft von Kranken mit kryptogenetischer Anämie bei Einwirkung von Fleisch keinen Effekt erzeugte, wohl aber das Magensekret von Achylikern ohne Anämie oder von Patienten mit achylischer Chloranämie. Somit muß im normalen Magensaft neben dem Pepsin und Labferment ein bisher unbekannter Faktor (intrinsic Faktor) vorhanden sein, der die Eigenschaft hat, aus bestimmten Nahrungsmitteln (extrinsic Faktor) den Perniciosa-Schutzstoff zu bilden. Reimann sieht in dem Kontakt der Muskulatur mit Magensaft das Wesentliche dieses Vorganges. Der „intrinsic Faktor" findet sich nicht nur im menschlichen Magensaft, sondern kommt auch bei Tieren vor, z. B. beim Rind (Wil-

liams) und beim Schwein (Wilkinson und Klein). Verschieden sind nur die Angaben über die Sekretion des Castle'schen Magenfaktors beim Hunde; Gutzeit und Hermann, wie Morris und Mitarbeiter fanden Hundemagensaft hämopoetisch wirksam, dagegen zeigten andere (Ivy, Richter und Kim), daß das nach der gleichen Art wie Schweinemagenpulver bereitete Hundeventrikulin die perniciöse Anämie nicht zu beeinflussen vermag. Es besteht kein Zweifel mehr, daß der aus Magensaft gewonnene endogene Faktor von dem aus der Leber gewonnenen Perniciosa-Schutzstoff verschieden ist. Das wichtigste Unterscheidungsmerkmal ist, daß der Leberstoff durch kurzes Erhitzen nicht zerstört wird, erst längere Temperatureinwirkung über 100 Grad vernichten ihn, der Castle'sche Faktor dagegen ist sehr thermolabil, Temperaturen über 100 Grad inaktivieren ihn in wenigen Minuten.

Der Nachweis des Castle-Prinzips erfolgte anfangs durch die Auslösung einer Retikulocytenkrise bei einem unbehandelten perniciosakranken Menschen. Die Ausführung des Versuches war aber zu umständlich und schwierig, denn nicht immer stand in der Klinik ein solcher unbehandelter Fall zur Verfügung und noch dazu ein Kranker, der sich willig der mehrtägigen Einnahme des Magensaftfleischgemisches unterzog. Deshalb konnte dieses Verfahren keinen Eingang in den alltäglichen Betrieb finden.

Das Produkt der Einwirkung des Verdauungssaftes auf die Muskulatur glich in seiner Wirkung auf die perniciöse Anämie und vor allem auf den Blutbefund des Kranken in jeder Weise dem wirksamen Schutzstoff der Leber. Der Castle-Versuch zeigte also, daß dieser Schutzstoff der Leber nicht allein in seiner wirksamen Form vorkommt wie in Leber und Niere, sondern daß derselbe Stoff außerdem noch präformiert in einer Form vorhanden ist, die erst infolge der Einwirkung von Magensaft durch die Verdauung von Muskulatur in die wirksame Form übergeführt und dadurch manifest wird. Reimann und Fritsch vermuteten nun, auch in der Leber könnte außer in wirksamer Form dieser Schutzstoff noch in vorgebildeter Form vorhanden sein. So haben sie teilweise zur Behebung der Schwierigkeiten des Castle'schen Versuches einen neuen Versuch modifiziert und unterwarfen Frischleber der Einwirkung von Magensaft, verabreichten sie in einer so kleinen Menge, daß diese allein, unverdaut gegeben, keine Veränderungen im Blutbild des Kranken bewirken konnte. Mehrere Tage hindurch gaben sie in vier Fällen verdaute Leber, wobei 50 g, 20 g, 10 g in sieben oder zehn Tagen als

tägliche Dosis gegeben wurden, außer diesen erhielten noch weitere fünf Fälle täglich 20 g gut zerkleinerte Leber, zu der 20 ccm frischer Magensaft gegeben wurde. Bei allen Kranken kam es zu einer starken Blutregeneration, wie sonst erst nach Verabreichung großer Lebermengen beobachtet werden konnte. Diese kräftige Regeneration ist also auf die Wirkung der verabreichten verdauten Leber zurückzuführen, die Leber muß durch die Magensaftverdauung in seiner Wirkung zugenommen haben, „die antianämische Potenz der Leber wird dadurch um ein Vielfaches gesteigert". Reimann und Weil wollten nun über das quantitative Ausmaß dieser Potenzsteigerung Aufschluß erhalten, sie legten ihren Untersuchungen dabei die Ergebnisse von Minot und Mitarbeitern zugrunde, die sich schon vorher mit dem quantitativen Verhalten der Retikulocytenkrise während der Lebertherapie befaßt hatten. Diese Resultate ließen dann einen Vergleich mit der Wirksamkeit der verdauten Leber vornehmen. Schon früher wurden Minots Ergebnisse dargelegt und es wurde dabei von einer Maximalausschwemmung der vital gefärbten Ery gesprochen, die bei einer gewissen optimalen Leberdosis erreicht wird. Diese Menge hat man als „adäquate" Dosis bezeichnet, sie betrug etwa 250 bis 300 g Volleber. Selbst eine größere Dosis bewirkt vielleicht rascher eine Retikulocytenkrise und das Maximum wird früher erreicht, ist aber in der Wirkung nicht mehr wesentlich stärker als die adäquate Dosis. In einem übersichtlichen Diagramm haben die amerikanischen Autoren ihre Erfahrungen an 62 Perniciosa-Kranken gesammelt und ausgewertet und das gegenseitige Abhängigkeitsverhältnis zwischen der Leberdosis, Ausgangszahl der Ery vor Beginn der Therapie und der beobachteten Maximalausschwemmung der Retikulocyten graphisch zur Darstellung gebracht.

Mit dieser tabellarischen Zusammenstellung war es möglich, die Ergebnisse nach Verabreichung von verdauter Leber in Vergleich zu bringen und so auch die adäquate Dosis bei verdauter Leber festzustellen, die Menge der Volleber und der angedauten Leber konnte gegenübergestellt und die Zunahme der Wirksamkeit zahlenmäßig festgelegt werden.

Tabelle 1 Tagesdosis: 50 g verdauter Leber

Nr.	Name	Alter	Geschl.	Anfangsw. Ery	Maxim. d. Sahli korr.	Tag	Retik. 0/00	Retik. abs. Z.	Max. bei Verabr. einer adäquat. Dosis
1	Big.	47	w.	1500	60	9.	260	744320	390000

(aus Singer, Klin. Wo. Schr. Jahrg. 14 Nr. 6)

Bei Verabreichung von 50 g verdauter Leber war also eine außerordentliche Reaktion festzustellen, sie entsprach einer Verabreichung von etwa 400 g Volleber.

Tabelle 2 bringt 6 Fälle, welche 20 g verdauter Leber erhalten hatten. Das Maximum der Ausschwemmung erfolgte durchschnittlich am 8. Tage nach der Verabreichung und der Mittelwert war 259000. Diese Zahl ist fast identisch mit der Zahl 266000, die bei adäquater Lebertherapie zu erwarten gewesen wäre, ein Beweis, daß 20 g verdauter Leber der Verabreichung einer adäquaten therapeutischen Dosis entsprechen.

20 g verdaute Leber = 300 g Volleber.

Tabelle 2 Tagesdosis: 20 g verdauter Leber

Nr.	Name	Alter	Geschl.	Anfangsw. Ery	Sahli korr.	Maxim. d. Tag	Retik. ‰	Retik. abs. Z.	Retik. Max. bei Verabr. einer adäquat. Dosis
1	Mi.	54	m.	1740	46	9.	144	286500	360000
2	Ba. I	52	w.	1020	28	9.	450	451000	440000
3	Bar.	42	w.	800	29	7.	500	800000	570000
4	Ca.	33	m.	2035	51	6.	102	250000	360000
5	Boh.	52	m.	1875	50	8.	114	301000	360000
6	Kol.	45	w.	720	24	9.	320	406400	570000
			Mittelwerte:			8.	236	432600	433300

(aus Singer, Klin. Wo. Schr. Jahrg. 14 Nr. 6)

Tabelle 3 stellt 3 Fälle zusammen, welche nur mehr 10 g verdaute Leber bekamen. Wie schon gesagt, wurde das Retikulocyten-Maximum später, durchschnittlich erst am 10. Tage, erreicht, der Wert war etwas geringer als bei Verabreichung der adäquaten Dosis zu erwarten gewesen wäre. Mit nur 10 g wurde beinahe dieselbe Wirkung erzielt wie mit 250—300 g Volleber, doch dürften 10 g die untere Grenze der optimalen Dosis darstellen.

Tabelle 3 Tagesdosis: 10 g verdauter Leber

Nr.	Name	Alter	Geschl.	Anfangsw. Ery	Sahli korr.	Maxim. d. Tag	Retik. ‰	Retik. abs. Z.	Retik. Max. bei Verabr. einer adäquat. Dosis
8	Bon.	34	m.	1520	42	11.	260	494000	390000
9	Mi.	54	m.	1416	32	7.	198	260000	470000
10	Bit.	60	w.	2200	71	12.	112	246000	300000

(aus Singer, Klin. Wo. Schr. Jahrg. 14 Nr. 6)

Aus diesen vergleichenden Untersuchungen ist zu ersehen, daß durch die Einwirkung von Magensaft auf die native Leber eine 30fache Wirkung erzielt wird. Aus dieser erheblichen Steigerung

geht aber hervor, daß in der Leber eine Vorstufe des Perniciosa-Schutzstoffes vorhanden sein muß, die durch die Verdauung mit Magensaft eine Wirksamkeit erfährt. Die Potenzsteigerung erfolgt durch den Castle'schen Faktor.

Schon früher wurden einige Nachweismethoden des Castle'schen Prinzips angegeben und auf ihre Mängel, besonders auf die Abhängigkeit vom menschlichen Testobjekt hingewiesen. Im folgenden soll eine Methode besprochen werden, die es erlaubt, mit ganz wenig Magensaft innerhalb weniger Tage im Tierexperiment nachzuweisen, ob in einem Magensekret der „intrinsic Faktor" vorhanden ist oder nicht.

Cario und Gebhardt gaben schon 1933 bekannt, daß bei Ratten nach Leberextraktinjektion eine Vermehrung der Retikulocyten im zirkulierenden Blut auftritt. Auf dieser Erkenntnis hat Singer in weiteren Versuchen die Ratten-Retikulocyten-Reaktion (RRR) eingehender beobachtet und fand dabei, daß normaler Magensaft nach parenteraler Applikation bei großen weißen Laboratoriumsratten eine Vermehrung der Retikulocyten hervorruft, während diese Reaktion bei Verwendung des Magensaftes von Perniciosa-Kranken fehlt. Magensaft von gesunden Patienten gibt eine positive RRR, wodurch die Diagnose des Morbus Biermer praktisch allein aus dem Magensaft möglich geworden ist.

Über die Methode, Technik der Blutabnahme und Gewinnung des Magensaftes, die Singer bei seinem Versuch anwandte, zu sprechen, ist zu weitläufig. In 3 Doppelversuchen injizierte er Tieren Magensaft in verschiedenen Mengen und erreichte eine RRR, die besonders immer am 3. Tag zu ihrem Maximum anstieg. In weiteren Versuchen erhitzte er den Magensaft etwa 5 bis 10 Minuten und fand, daß dadurch die Wirkung aufgehoben wurde und keine RRR erfolgte. Zu der gleichen Feststellung kam er bei den weiteren 41 Untersuchungen mit Magensaft von Perniciosa-Kranken.

Ratte	Magensaft injiz. Menge i. ccm	Behandlung	Retikulocytenwerte am Tag 1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	Bewertung
1	15	nicht erh.	3	4	5	16	24	—	—	positiv
2	15	erhitzt	5	6	8	10	11	5	8	negativ
3	10	nicht erh.	3	5	8	—	18	22	—	positiv
4	10	erhitzt	5	7	—	—	8	9	6	negativ
5	3	nicht erh.	5	10	4	16	32	—	—	positiv
6	3	erhitzt	7	20	6	11	9	10	9	negativ

(aus Singer, Klin. Wo. Schr. Jahrg. 14 Nr. 6)

Eine Überraschung erlebte Singer, als er Hundemagensaft zur Auslösung einer RRR verwendete, denn Hundemagensaft ergab immer eine negative RRR, genau wie Magensekret von Perniciosa-Kranken. Dieses Versuchsergebnis stimmt aber mit den Beobachtungen von Ivy, Richter und Kim überein, die zeigten, daß Hundemagenpulver keinen therapeutischen Effekt bewirkt im Gegensatz zu den Schweinemagenpräparaten.

Die Ergebnisse Singers mit gekochtem Magensaft und Sekret von Perniciosa-Kranken wurden auch von anderen Autoren, wie Kammerling, Fleischhacker und Schlesinger u. a., bestätigt. Die angeführten Versuchsergebnisse zeigten eine auffallende Parallelität zwischen dem Ausfall der RRR und den entsprechenden Castle-Versuchen. Es schien deshalb der Schluß nahe, daß die RRR bewirkende Substanz mit dem Castle-Prinzip identisch sei. Dagegen sprachen nun andere von Fleischhacker, Schlesinger und Kammerling veröffentlichte Versuche, die zeigten, daß auch Pepsin-Salzsäurelösung eine positive RRR hervorrufen könnte. Kammerling sah nun in dem Pepsin die wirksame Substanz. Singer jedoch hatte in seinen früheren Versuchen mit Pepsin-Salzsäurelösungen nur eine negative RRR erzielt, ebenso mit dem pepsinreichen Hundemagensaft. Man hat nun die widersprechenden Ergebnisse neu durchgearbeitet und wollte sich darüber Aufklärung verschaffen, welcher Stoff im Magensaft die RRR auslöst, das Pepsin oder das Castle-Prinzip.

Singer erkannte, falls bei Verwendung der gleichen Untersuchungsmethoden, die durch mehrere Experimentatoren angestellt wurden, verschiedene Resultate erreicht würden, es sich nur um einen systematischen Fehler handeln könnte. Bei den widersprechenden Versuchsergebnissen über die Einwirkung von Pepsin Salzsäurelösungen auf den Retikulocytenspiegel der Ratte fiel ihm auf, daß seine Nachprüfer ganz andere Pepsinpräparate verwendet hatten, so z. B. Kammerling das Witte-Pepsin, während er selbst mit dem Pepsin reichen Hundemagensaft und dem Pepsinum germanic. der Österr. Heilmittelstelle arbeitete. Gutzeit berichtete ferner, daß er bei dem von der I.G.Farben hergestellten Azidol-Pepsin bei perniciosa-kranken Menschen einen Effekt beobachten konnte.

Singer prüfte nun diese verschiedenen Pepsinarten auf ihre Fähigkeit zur Auslösung einer RRR und kam zu dem Ergebnis, daß die 4 Präparate bei gleicher peptischer Kraft bezüglich ihrer Wirksamkeit sich untereinander verschieden verhalten. In folgender Tabelle hat Singer 3 Tierversuche mit jedem einzelnen Präparat aus einer größeren Reihe von Experimenten zusammengestellt.

Pepsinpräparat	Ratten Retikulocyten Reaktion i. % Ausg. Wert	Endwert am 3. bis z. 7. Tag nach d. Injektion	Versuchs Resultat
Azidol Pepsin	8	21	positiv
„ „	4	20	positiv
„ „	9	22	positiv
Witte Pepsin	4	25	positiv
„ „	1	20	positiv
„ „	2	21	positiv
Pepsin Germanic.	5	5	negativ
„ „	4	3	negativ
„ „	7	3	negativ
Hunde Histamin	7	4	negativ
Hunde Mag.Saft	1	3	negativ
„ „	6	8	negativ

(aus Singer, Klin. Wo. Schr. Jahrg. 15 Nr. 19)

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß nicht das Pepsin die RRR auslösen kann, die Anschauung von dem systematischen Fehler, der die differenten Ergebnisse aufklärt, hat sich als berechtigt erwiesen.

Weiter wurde nun der die RRR bewirkende Faktor aus dem Pepsinpräparat isoliert, nach dem Verfahren von Hammerstein, das schon Castle bei seinen Versuchen, den intrinsic Faktor von Pepsin aus normalen Magensaft zu scheiden anwandte, in dem mittels einer Casein Natriumcarbonatlösung das Pepsin vollständig ausgefällt wird und im Filtrat das pepsinfreie Castle-Prinzip zurückbleibt. Die Methode wurde angewandt, mit diesen pepsinfreien Produkten die RRR ausgeführt und als Kontrolle die Caseinlösung verwendet.

Präparat	R R R Ausg. Wert	Endwert	Versuchsergebnis
Pepsin freies	1	25	positiv
Azidol-Pepsin	7	28	positiv
Präparat	3	28	positiv
Caseinlösung	4	2	negativ
„ „	3	7	negativ
„ „	2	5	negativ

(aus Singer, Klin. Wo. Schr. Jahrg. 15 Nr. 19)

Diese Tabelle zeigt, daß das Azidol Pepsin neben dem Pepsin noch einen anderen Stoff enthält, der eine positive RRR auslöst.

Dieser Stoff kann wie der Castle-Faktor aus dem Magensaft abgetrennt werden, welche Tatsache dafür spricht, daß dieser Stoff mit dem Castle-Faktor identisch sein dürfte. Gutzeit's frühere Angabe, bei Perniciosa Pepsin-Salzsäure zu verordnen, hat gezeigt, daß dieser althergebrachten Verabfolgung eine tiefe therapeutische Weisheit zugrunde lag.

Nach Angaben G. Leiners gelang es, auch durch Harn eine RRR auszulösen, bei Perniciosa-Kranken bleibt jedoch die Retikulocytenvermehrung aus. Im Laufe der Lebertherapie wird aber die Reaktion positiv. Leiner vermutete, daß das Castle-Prinzip mit dem Harn ausgeschieden wird. Singer jedoch fand, daß die Substanz, welche die RRR ergibt, im Gegensatz zu dem gleich wirkenden Magenstoff thermostabil ist, da auch gekochter Harn eine positive Reaktion ergibt. Es wurde nun angenommen, daß nicht das Castle-Ferment, sondern der fertige thermostabile Perniciosa-Schutzstoff die Harn-RRR auslösen dürfte.

Trotz der Erfolge der Volleberverdauung mittels Magensaft war die Art der Therapie, für längere Zeit Leber oral zu geben, den meisten Patienten so unerträglich, daß die medizinische Forschung immer darnach strebte, das wirksame Leberprinzip parenteral zu verabreichen. Gänsslen stellte als erster ein Leberextrakt her, das, intramusculär einverleibt, eine starke Wirkung auf den Blutbefund der perniciösen Anämie entfaltete. Es kam unter dem Namen Campolon in den Handel, amerikanische Forscher verwendeten eine durch Fällung und Extraktion mit Alkohol aus der Volleber gewonnenen Fraktion G = Lilly 343.

Die Vorteile der parenteralen Verabreichung bestanden darin, daß gegen die orale Applikation eine große Abneigung von Seiten der Patienten bestand, daß eine größere Zufuhr im Vollstadium der Erkrankung an dem schlechten Allgemein-Zustand des Patienten scheiterte und die ökonomische Auswertung der Leber und ihrer Wirkung bedeutend größer war. Zur Wiederherstellung des Blutbildes sind viel geringere Mengen Leber notwendig. Gänsslen's Extrakt aus 5 g Frischleber ersetzt in der Wirkung 500—600 g Volleber oral gegeben, er sprach von einer 50fachen Überlegenheit der parenteralen Zufuhr, während Minot die Überlegenheit der Fraktion G auf das 30fache schätzte.

Mit der Herstellung dieser Präparate erhob sich auch die Frage nach den Ursachen der Differenzen in der Dosierung, die aus der oralen und parenteralen Applikation entstehen. Bei der Perniciosa befindet sich der ganze Verdauungsstraktus in einem pathologischen Zustand, es kommt dadurch zu einer verminderten Ausnützung aller Nahrungsstoffe. HCL-Mangel und Fehlen der

Magenfermente beeinträchtigen die Aufbereitung der Leber, gerade die Isolierung des Stoffes aus der Leber scheint besonders schwer zu sein. Die Verminderung der Resorptionsfähigkeit geht einher mit einer raschen Entleerung der aufgenommenen Nahrung aus dem Magen und schnellen Passage durch den Darm, die Neigung zu Durchfällen setzen die Verdauung der eingebrachten Nahrung herab.

Die Wirkungssteigerung der Leber durch Magensaft hat bewiesen, daß in der Leber eine Vorstufe des Leberschutzstoffes enthalten ist, der dort aufgestapelt wird. Oral gegeben wird der wirksame Stoff aus dem Magendarm resorbiert, über den Portalkreislauf von der Leber abgefangen und dort abgelagert, während bei parenteraler Einverleibung der Stoff unter Umgehung der Leber direkt dem hämopoetischen System angeboten wird, er kann sofort für den Blutaufbau Verwendung finden.

Reimann, Sinek und Fritsch haben die Wirkung geprüft, wenn die Leber nur einem bestimmten Darmabschnitt zur Resorption angeboten wurde. Unter Umgehung des Magens oder der oberen Darmabschnitte wurden in tiefere Teile des Jejunum-Rectum Frischleber und Leberextrakt-Präparate eingebracht, zum Vergleich wurde anschließend nach Untersuchung des Blutbefundes die gleiche Menge Leber oder ein Präparat per os gegeben, dabei fanden sich alle Fälle im Vollstadium der Perniciosa. So wurde in 2 Fällen intrajejunal Leber verabreicht und dabei ein deutlicher Anstieg der Retikulocyten-Ery und des Hb beobachtet. In 4 Fällen gaben sie Leber rectal, wobei keine positive Wirkung erzielt wurde. Verschiedene Angaben der Literatur sprachen dagegen von einer rectalen Wirkung, daß diese Form der Applikation aber über sichere Ergebnisse verbürgt, konnte nicht festgestellt werden. Je tiefer der Darmabschnitt, desto ungünstiger die Wirkung und schlechter die Resorption, nur in den oberen Darmabschnitten wird eben der wirksame Leberschutzstoff resorbiert.

Man vermutete nun auch, daß das wirksame Leberprinzip durch Verdauungsfermente des Darmes das Trypsin-Erepsin zerstört werden würde. Es wurden in dieser Richtung von den vorher genannten Autoren Untersuchungen angestellt, die eindeutig bewiesen, daß in diesen Fermenten weder eine Zerstörung noch eine Herabminderung der Wirksamkeit des Leberschutzstoffes steckt. Sie gewannen eher den Eindruck, als ob durch die Verdauung die Wirksamkeit des Hepaktrom, dieses Präparat wurde hauptsächlich bei den Versuchen verwendet, eine Zunahme erfahren hätte.

Im Zusammenhang mit diesen Verdauungsversuchen wurde auch nachgeprüft, ob durch die Fermentwirkung vom verabreichten Hepaktron nicht Spaltprodukte abgetrennt werden, deren Isolierung durch ein Dialysierverfahren möglich ist. Je eine Tagesdosis verdauten Hepaktrons wurde nach Neutralisation in eine Dialysierhülse gegossen, dann bei 37 Grad nach ständigem Rühren während 24 Stunden gegen physiologische Kochsalzlösung dialysiert. Innerhalb der Dialysiermembran zeigte das Dialysat eine leicht gelbliche Färbung. Es wurde sowohl die Außenflüssigkeit (Dialysat) wie auch die Innenflüssigkeit (das verdaute Hepaktron) auf die Wirksamkeit untersucht und bei Perniciosa-Kranken verabreicht. Man konnte eine deutliche Wirkung auf den Blutbefund beobachten, sie trat jedoch verspätet und sehr gering auf. Die Versuche ergaben, daß das Dialysat des Hepaktronfermentgemisches eine unabstreitbare Wirkung ausübt.

Vorhergehend wurde bereits von der Steigerung der antianämischen Potenz der Leber nach Verdauung mit Magensaft gesprochen. Diese Autoren unterwarfen außer der Volleber noch die sog. Fraktion D und G, welche aus der Leber nach einem besonderen Verfahren hergestellt wurden, der gleichen Verdauung. Walden und Clowes entdeckten dabei, daß bei der Verdauung der Fraktion G eine viel geringere Wirksamkeitssteigerung erzielt wurde, sie schätzten sie etwa nur auf das 3- bis 4fache der ursprünglichen Wirkung. Es besteht also zwischen der Zunahme der Wirksamkeit der Volleber und der Fraktion G nach Verdauung eine große Differenz. Zum Verständnis der Untersuchungen befaßten sich die Autoren näher mit dem Verhältnis zwischen der Leberfraktion G und der Volleber, in einer Reihe von Versuchen studierten sie das Verhalten des „Hämogens" bei der Fraktionierung und Extraktion der Leber. Sie kamen zu der Erklärung, daß bei der Perniciosa die Magenverdauung völlig darniederliegt und daß durch die Verabfolgung eines künstlichen Verdauungsproduktes mit normalen Magenfermenten dafür ein gewisser Ersatz geschaffen wurde. Das Lebergewebe wird vorher schon durch den Verdauungsprozeß aufgeschlossen und kann dann besser ausgenützt werden als Rohleber. Die Fraktion G dagegen ist selbst schon ein Produkt, das durch weitgehende Reinigung und Fraktionierung erhalten wurde, der Effekt wird sich daher in viel geringerem Maße geltend machen als bei der verabreichten nativen Leber. Außerdem enthält die Fraktion G den wirksamen Stoff in einer stärkeren Konzentration als Volleber und wirkt deshalb rascher und intensiver. Die Potenzsteigerung macht sich deshalb nicht so auffällig bemerkbar. Die Haupt-

ursache besteht aber darin, daß die Fraktion G, wie die Versuche der Autoren zeigten, nur einen kleinen Teil des gesamten Perniciosa-Schutzstoffes der Leber enthält. Die Fraktion G, die aus einer bestimmten Menge Volleber hergestellt ist, enthält kaum die Hälfte des Hämogens, der Vorstufe des antianämischen Stoffes der Leber, als in dieser Ausgangsmenge ursprünglich vorhanden war. Bei der Aufbereitung und Fraktionierung der Leber wird durch Koagulation der Eiweißstoffe ein großer Teil des Hämogens mit ausgefällt und geht verloren. Die Erhöhung der Leberwirkung sowie der Fraktion G beruht auf der Umwandlung des Hämogens in wirksamen Leberschutzstoff. Somit ist die Differenz der Wirkung neben den anderen Ursachen besonders auf den geringen Gehalt der Fraktion G an Hämogen zurückzuführen, der 30fachen Potenzsteigerung von Volleber durch Verdauung mit Magensaft steht nur eine 3- bis 4fache der Fraktion G gegenüber.

Die Ansicht, von der perniciösen Anämie als eine Art Mangelkrankheit zu sprechen und die Tatsache, daß der exogene Faktor nicht allein in Leber und Muskel, sondern auch in der Hefe gefunden wurde, haben zur Anschauung geführt, daß dieser extrinsic Faktor mit dem Vitamin B-Komplex in enger Beziehung stehen könnte.

So haben Cohn, Minot und Mitarbeiter bei den ersten Versuchen Perniciosa-Kranken große Dosen Hefe-Cakes und wässerige Hefeextrakte ohne jeden Effekt verabreicht. Spätere Versuche haben verschiedene therapeutische Erfolge gezeigt. Auffallend war die Feststellung Lucy Wills, daß die makrocytäre Tropenanämie, die der Perniciosa ähnelt, aber ohne Achylie verläuft, durch Gabe von Hefepräparaten heilbar ist. Das gleiche ist bei der Anämie der tropischen Sprue der Fall. Man führte die Entstehung auf einen Mangel der Nahrung an extrinsic Faktor zurück.

In einem Experiment brachten Lucy Wills und Bilimoria den Beweis, daß der Mangel an exogenem ebenso wie an endogenem Faktor zur Perniciosa-Blutbildung führt. Sie gaben 12 jungen Mocacus rhesus Affen Vitamin A—D freie Kost, worauf die Tiere ein gestörtes Wachstum zeigten, außerdem entwickelte sich eine hyperchrome Anämie mit deutlichen megaloblastischen Veränderungen des Knochenmarkes. Zufuhr von Vitamin A—C in Form von Früchten und Lebertran beseitigte die Anämie nicht, wohl aber trat nach Marmite, einem Vitamin B reichen Hefeextrakt, eine auffallende Besserung ein, was auf eine Beziehung des extrinsic Faktor zum Vitamin B_2 Komplex hindeutet. Strauß

und Castle untersuchten nun diese Beziehungen. Gerade in letzter Zeit wurde der B-Komplex in viele einzelne Komponenten wie B_1 B_2 B_3 — B_5 Komplex aufgeteilt. Daß der extrinsic Faktor zum B_1 Komplex keinerlei Beziehungen hat, dürfte daraus hervorgehen, daß bei der menschlichen Beri Beri keine Anämie auftritt, außerdem wird der B_1 Stoff bei längerem Erhitzen der Hefeextrakte zerstört, während der endogene Faktor unberührt bleibt. Wills und andere Autoren konnten auch in hochkonzentrierten B_2-Präparaten keinen extrinsic Faktor nachweisen, sodaß die Vorstufe des Perniciosa-Schutzstoffes auch mit dem B_2 Komplex nicht identisch sein dürfte.

Kompliziert wurden die Verhältnisse durch den Umstand, daß der B_2-Stoff selbst keine einheitliche Substanz darstellt, sondern in drei einzelne Komponenten zerfällt, von denen einem eine antianämische Eigenschaft zukommen soll. Bei Ratten wurde durch Vitamin B_2 freie Diät eine der menschlichen Pellagra ähnliche Erkrankung hervorgerufen. Die dabei auftretende Anämie ist der menschlichen Perniciosa sehr ähnlich, diese kann beim Menschen ebenfalls durch Leberzufuhr beeinflußt werden.

Guha zeigte, daß die Anämie bei der Ratten-Pellagra zwar durch Leber beseitigt wird, aber daß das wirksame Prinzip nicht mit dem fertigen Perniciosa-Schutzstoff gleichartig ist. So kann nur von einer Verwandtschaft und einer vitaminartigen Beschaffenheit des Perniciosa-Schutzstoffes mit dem Vitamin B Komplex gesprochen werden. (Singer.)

Die perniciöse Anämie mit einem Vitaminmangel in Zusammenhang zu bringen, führte weiter zu eingehenden Untersuchungen über die Ursachen der Anämie, die bei längerer Gabe von Ziegenmilch im Kindesalter auftritt. Man erblickte in dem ungenügenden Vitamin C-Gehalt der Ziegenmilch, die auf die vitaminarme Fütterung der Tiere zurückgeführt wurde, die Ursache der Erkrankung. Gegenüber der Kuhmilch war der Vitamin C-Gehalt der Ziegenmilch vermindert. Meerschweinchen, die mit Ziegenmilch ernährt werden, erkranken an Skorbut, nicht ist aber mit dieser Erkrankung zugleich eine Anämie verbunden. Mangel an Vitamin C führte beim menschlichen Säugling zur Möller Barlow'schen Krankheit und nicht zu einer Ziegenmilch-Anämie entsprechenden Gesundheitsstörung. Es konnte die Vitaminmangel-Theorie nicht als Ursache der Ziegenmilch-Anämie angesehen werden. Man versuchte nun den Eisengehalt der Ziegenmilch damit in Zusammenhang zu bringen. Der Fe-Gehalt der Ziegenmilch ist etwas höher als der der Kuhmilch, eine schlechtere Verwertbarkeit des Eisens konnte ebenfalls nicht nachgewiesen wer-

den. Als ausschlaggebender Beweis gegen die Eisenmangel-Theorie kann die Tatsache dienen, daß Fe-Medikation bei Ziegenmilch-Anämie allein nicht heilt, während alle anderen auf Fe-Mangel beruhenden Anämien sonst dadurch zur Heilung gelangen. Von anderen Autoren wurde wiederum dem erhöhten Fettgehalt der Ziegenmilch die Schuld an der Anämie zugesprochen, neue Untersuchungen kamen aber zu dem Ergebnis, daß Ziegenmilch hinsichtlich des Fettgehaltes gleichgestellt werden muß. Man betrachtete nun eingehender den Unterschied der chemischen Zusammensetzung zwischen Kuh- und Ziegenmilchfett. Stöltzner hat dabei eine direkt anämisierende Wirkung des Ziegenmilchfettes wegen seines hohen Fettgehaltes an ungesättigten Fettsäuren angenommen. Alle diese einzelnen Theorien veranlaßten Rominger und Bomskow zu eingehenden Untersuchungen. Sie verwandten in einer Ernährung statt Kuhmilch Ziegenmilch, dabei verzichteten sie bewußt auf eine ausschließliche Ziegenmilchernährung, da es sich doch um eine aphysiologische Ernährungsweise dabei handelte. Man gab gesunden und kranken Kindern bei sonst normaler Ernährung Ziegenmilch und beobachtete die Wirkung. Es war keinerlei anämisierende Wirkung festzustellen, bei kranken Kindern hat Ziegenmilchfütterung nicht zu einer Anämie oder Verschlechterung einer bestehenden Anämie geführt, sofern die übrige Ernährung richtig durchgeführt wurde.

Kind: 10 Monate alt, Dystrophie, Rachitis, Otitis media chronica, Ziegenmilchfütterung vom 31. 7. bis 18. 10. 32. Während des Versuches wiederholt Fieberperioden: Gewichtszunahme 810 g.

Datum	Hämoglobin	Erythrocyten
1. 8.	12,8	4,1
20. 8.	13,0	4,5
1. 9.	12,2	3,2
12. 9.	12,4	4,1
8. 10.	12,2	4,1
25. 10.	12,2	4,8
26. 10.	12,6	4,3

Die vielen tierexperimentellen Versuche, die bei Ratten angestellt wurden, ergaben, daß ausschließlich Kuhmilchfütterung bei jungen wachsenden Ratten sowohl im Alter von 3—4 Wochen, als auch 8 Wochen eine Anämie hervorruft, die hypochromen Charakter besitzt. Diese Anämie ist durch Fe heilbar. Ziegenmilchernährung führt bei Ratten von 8 Wochen ebenfalls zu einer Anämie, die sich von der Kuhmilch nicht unterscheidet.

Im Gegensatz dazu besteht bei jüngeren Tieren im Alter von 3—4 Wochen nach Ziegenmilchernährung eine Anämie, die von der Kuhmilchanämie verschieden und als Schädigung der Ziegenmilch anzusehen ist. Diese Anämie zeigt ein hyperchromes Blutbild nach Art der Biermer'schen Krankheit. Sie tritt etwa nach 6tägiger Ziegenmilchfütterung auf, ist meist von der Leukopenie begleitet und zeigt einen Retikulocytenanstieg bis auf 75 %. Durch Gabe von Vitamin konnte die Entstehung der Krankheit nicht beeinflußt werden, auch die Verfütterung einer an ungesättigten flüchtigen Fettsäuren angereicherten Ziegenmilch ruft die Anämie nicht eher hervor und verstärkt das Krankheitsbild nicht. Es ist diese Anämie weder eine A, C Avitaminose, noch eine toxische Anämie, beides konnte durch zahlreiche Tierversuche bestätigt werden. Die Entstehung der experimentellen Ziegenmilchanämie läßt sich vermeiden durch Zufütterung von Geiß- und Kuhmilch, weiter läßt sie sich beeinflussen durch Injektion von Leberextrakten. In all diesen Fällen blieben die Erywerte normal oder werden zur Norm zurückgeführt, während der Hb-Gehalt unbeeinflußt bleibt oder noch weiter absinkt. Es wird der hyperchrome Charakter in einen hypochromen umgewandelt, was auch die prompte Eisenwirkung bei der Therapie beweist. Bei gleichzeitiger Wirkung von Leber und Eisen wird in kurzer Zeit ein normaler Blutstatus erreicht. So ist diese Art Anämie als eine kombinierte Anämie vom Perniciosatyp aufzufassen, die sowohl als Folge des Eisenmangels als des Fehlens eines gegen die Perniciosa gerichteten Faktors entsteht. Durch Zugabe dieser beiden Substanzen wird sie schlagartig beseitigt. Die Auffassung von der experimentellen Ziegenmilch-Anämie der Ratte als Perniciosa-Anämie, beruhend auf den Mangel an Leberschutzstoff, wird noch durch die Tatsache verständlich, daß sich diese nur bei jungen Tieren von 3—4 Wochen hervorrufen läßt. Ältere Tiere haben anscheinend durch die gemischte Ernährung schon einen großen Vorrat an Leberschutzstoff aufgespeichert, sie lassen sich deshalb durch das Fehlen des exogenen Faktors in der Ernährung viel weniger schädigen als noch nicht ausgereifte Tiere. G y ö r g y hat schon vorher die Vermutung ausgesprochen, daß die Anämie auf dem Mangel des sog. exogenen Faktors beruhe. Dieser Stoff kommt eben in der Ziegenmilch nur in kleineren Mengen vor, deshalb muß er in Form von Kuhmilch oder sonstigen Nahrungsmitteln zugeführt werden. Auch eine überaus starke und fettreiche Ziegenmilchzufuhr kann die Entstehung der Anämie verhüten, mit der vermehrten Gabe von Milch wird auch der exogene Faktor in stärkerem Maße gegeben.

Der Umstand, daß es gelang, bei der Ratte experimentell eine Anämie vom Perniciosatyp zu erzeugen und zu heilen, führte zu der naheliegenden Schlußfolgerung, diese Erscheinung dahin auszuwerten, um in biologischen Versuchen Leberextrakte auf ihren Gehalt an Perniciosa-Schutzstoff auszuprobieren. In mehreren Versuchen wurde daraufhin eine Testmethode ausgearbeitet, die sich gegenüber den anderen Verfahren als ein besonders geeignetes Objekt für die Auswertung von Leberpräparaten erwies. Trächtige Ratten erhielten 10 Tage vor dem Werfen als Nahrung Kuhmilch, Brot und Küchenabfälle, nach dem Werfen bekamen sie besonders viel Milch. Die jungen Tiere blieben bei der Mutter, bis sie ein Alter von 21—28 Tagen erreichten. Dann wurde ihnen ausschließlich Ziegenmilch verabreicht und zwar Mischmilch von etwa 5 Ziegen. Bei Beginn des Versuches hatten die Tiere 4—6 Mill. Ery und etwa 10—12 g Hb, von jeweils 4 Versuchen eines Wurfes galt einer als Kontrollversuch. Die 3 weiteren Versuche erhalten steigend Nahrung des zu prüfenden Präparates, das man entweder subcutan oder peroral verabreichen kann. Vom 1. Versuchstag an erhalten die Tiere eine bestimmte Dosis eines Leberpräparates. Als eine Ratteneinheit bezeichnete man diejenige Dosis, die täglich gegeben während 18—20 Tagen die Erywerte auf der gleichen Höhe wie zu Anfang des Versuches hält. Rominger und Bomskow stellten mehrere Testversuche mit dem Leberextrakt Hepatopson an. Aus den Ergebnissen dieser Versuchsreihe ist ersichtlich, daß eine Dosis von täglich 0,1 ccm dieses Präparates während 18—20 Tagen den Abfall der Ery nicht aufhalten kann, die schützende Dosis beträgt etwa 0,2—0,4 ccm. Mit diesem Testverfahren wurde es möglich, die Leberpräparate auf einen bestimmten Wirkungswert einzustellen. Wolf und Tschesche versuchten unter genauer Einhaltung der von Rominger mitgeteilten Versuchsbedingungen die beschriebenen Veränderungen bei der Rattenanämie zu produzieren. Sie konnten im Gegensatz zu diesen Autoren bei jungen Ratten keine hyperchrome, auf Leberverabreichung reagierende Anämie erzielen, es handelte sich stets um eine hypochrome Form. Es kam in keinem Fall auch zu Sprue ähnlichen Durchfällen oder strengen Veränderungen, ebensowenig zu Muskelschwäche und Steife in Gliedern und Lähmungen, wie sie Rominger und Bomskow beobachteten. Trotzdem es durch diese Versuche nicht gelang, das von Rominger beschriebene Krankheitsbild durch Ziegenmilch-Anämie genau nachzuahmen, so war doch nicht abzustreiten, daß Ziegenmilchverfütterung schnell zu einer schweren Anämie führt. Auch von der Heilwirkung durch Leber, die sich

nur auf Ery-Leukocyten erstreckte und des Eisens mit seiner Wirkung auf den Farbstoff anstieg, konnte man sich überzeugen. Zur Prüfung der Wirkung wählten sie als Präparat das Pernämyl forte, das bei einer untersten Grenze von 0,03—0,05 ccm täglicher Injektion wirksam war.

Neben der Eisenwirkung auf die Blutbildung schrieb man auch dem Kupfer einen anregenden Einfluß zu. Verabreichung von Kupfer per os allein in Form von verdünnten Kupfersulfatlösungen ergab zunächst bei den durch Ziegenmilch anämisierten jungen Ratten einen deutlichen Anstieg der Ery-Leukocyten, dabei sank das Hb langsam ab. Nach 2—3 Wochen nahm auch die Eryzahl wieder regelmäßig ab und sank weiter, entsprechend dem Verhalten der unbehandelten Kontrolltiere. Auch eine Steigerung der Kupferdosen bis zu toxischen Mengen brachte kein anderes Ergebnis, sodaß dem Kupfer kein dauernder Einfluß auf die Steigerung der Blutwerte zugeschrieben werden kann. Wolf und Tschesche beobachteten bei ihren Versuchen auch jahreszeitliche Schwankungen beim Ablauf der Anämie. Die ersten Versuche hatten sie im Herbst und Winter durchgeführt, bei den folgenden im Verlauf des Sommers gelang es unter gleichen Versuchsbedingungen nicht mehr, die Milchanämie bei jungen wachsenden Ratten hervorzurufen, die Tiere blieben sowohl bei Kuh- wie Ziegenmilch auf dem normalen Stand des Blutbildes. Sie brachten diese Tatsache mit der Grünfütterung der milchspendenden Tiere in Zusammenhang. Schönenberg machte damals schon die wichtige Beobachtung, daß sich die Ziegenmilch-Anämie junger Ratten durch Behandlung des milchgebenden Tieres mit Campolon verhüten läßt, der die Anämie verhindernde Stoff muß also in die Milch übergetreten sein. Graal zeigte, daß orale oder parenterale Verabfolgung von Eisen und Kupfer freien Chlorophyll einen allerdings nur vorübergehenden Eryanstieg bei jungen Ratten erzeugte, die durch Ziegenmilch anämisch gemacht wurde.

Trotz der Widersprüche, die durch die Versuche sich ergaben, besitzt die Methode dieses Testverfahrens den Vorteil, daß bei den kleinen Tieren sehr geringe Mengen wirksamer Substanz erforderlich sind. Bei einer genügenden zeitlichen Ausdehnung der Versuche ließ sich, wie der Versuch Graal's beweist, eine nur vorübergehende Reizwirkung auf Knochenmark von der langanhaltenden Dauerwirkung von Stoffen unterscheiden, die bei der Erybildung wichtig sind. So war zu erwarten, daß die Methode eine etwas größere Spezifität für die Erfassung wirklicher Knochenmark wirksamer Stoffe bot, als die früher er-

wähnte Retikulocyten-Reaktion der wachsenden Ratte. Die Brauchbarkeit der Milchanämie der jungen Ratte als Testmethode auf die Blutbildungswirkung von Leberextrakten hat sich somit erwiesen.

In anderen Versuchen ist es gelungen, bei Diät anämisierten Ratten durch Injektion von Uropterin den Abfall der Ery aufzuhalten und sogar ein Ansteigen zu erreichen, gleichzeitig beobachtete man das Absinken des Hb. Tschesche und Wolf prüften mit diesem Tiertest Proben von Xanthopterin, Leukopterin usw., es konnte dabei eine Wirkung auf die Retikulocytensteigerung festgestellt werden. Koschara hat die weite Verbreitung des Xanthopterins in der Leber nachgewiesen und die damit angestellten Versuche haben eine Wirkung ergeben.

Die nämlichen Autoren haben in Tierversuchen auch das Lactoflavin auf seine antianämische Wirkung geprüft und zwar deswegen, weil es wie Xanthopterin in der Leber und den daraus gewonnenen Extrakten zu finden ist. Außer einer geringen Verzögerung des Abfalls der Ery konnte keinerlei Wirkung oder eine dauernde Heilung erzielt werden.

Chemische Erläuterungen über den Perniciosa-Schutzstoff und „intrinsic Faktor".

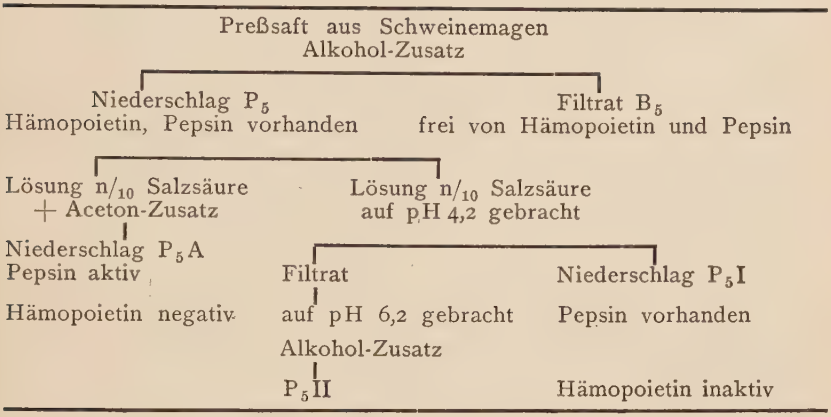
Cohn, Minot und andere Autoren stellten aus fein zerkleinerter Rohleber einen Brei her, der zur Verhinderung der Autolyse X auf pH = 9,0 gebracht und filtriert wurde. Durch weitergehende Ansäuerungen (bis pH 5,0), Ausfällungen, Abfiltrieren über die Fraktion A, B, C wurde die Fraktion D gewonnen, die schon frei von den Blutzucker beeinflussenden Stoffen ist, die in der Leber enthalten sind. Diese Fraktion D wurde weiter gereinigt durch Äther und dieser Ätherrückstand (Fraktion E) mit Alkohol behandelt. Dieses Extrakt (Fraktion F) enthält den größten Teil der Blutdruck senkenden Leberbestandteile, während der Perniciosa-Schutzstoff in der durch Alkohol nicht extrahierbaren Fraktion G zurückbleibt. Mit dieser Fraktion G konnte man bei täglicher oraler Zufuhr schon eine Normalisierung des Blutbildes erzeugen, die Fraktion G ist im wesentlichen identisch mit dem schon erwähnten Präparat der Amerikaner Nr. 343 der Firma

Lilly. In den weiteren Versuchen reinigte man den Perniciosa-Schutzstoff von den noch vorhandenen Ballaststoffen. Die gleichen Forscher entdeckten, daß das wirksame Prinzip der Fraktion G dialysabel ist, daß es an Kieselsäure nicht adsorbiert wird, wodurch es sich gerade von Vitamin B unterscheidet. Durch Reinigung mit Butylalkohol unter vorhergehender Alkalisierung mit Bayumhydroxyd und weiter mit Bleiacetat wurde dieser Bleiacetatniederschlag mit Phosphorsäure gefällt und 90 %igem Aceton weiterbehandelt. Der Aceton unlösliche Stoff ist das bestgereinigte Präparat und frei von Eiweiß, Lipoiden und Kohlehydraten. Anschließend gelang es Cohn und Minot, dieses Präparat von den restlichen Albumosen, Peptonen und Polypeptiden zu trennen und auch von Tryptophan, Tyrosin, Leucin, Purinbasen und phosphorhaltigen Bestandteilen zu befreien, bis die Reinigung dermaßen fortgeschritten war, daß die tägliche Zufuhr mittels i. v. Injektion von 25 mg zur Erzielung einer maximalen Retikulocytenkrise genügte. Gegen hohe Temperaturen erwies sich der Perniciosa-Schutzstoff als sehr widerstandsfähig, erst viele Stunden dauerndes Erhitzen zerstört seine Wirksamkeit. Entsprechend diesen Untersuchungen sehen Cohn und Minot nach dem chemischen Verhalten in der wirksamen Substanz eine sec|undäre und tertiäre Amine aufweisende Base.

Dakin, West und Howe gingen von der Fraktion G aus. Nachdem es ihnen gelang, aus einer 2 Aminosäure die ß Hydrooxyglutaminsäure und das x 1. Hydroxypyrotin zu isolieren, vermuteten sie im Perniciosa-Schutzstoff eine Verbindung dieser beiden Substanzen. Diese Ansicht haben jedoch beide Autoren wieder selbst zurückgezogen.

Wilkinson und Klein haben sich näher mit der chemischen Natur des intrinsic Faktors befaßt. Sie verwendeten zu anfangs ihrer Untersuchungen einen Preßsaft aus frischem Schweinemagen. Dieser enthält an bekannten Fermenten nur das Pepsin und hat einen pH von 6,20. Zu diesem Preßsaft wurde 92 %iger Alkohol hinzugesetzt, der Niederschlag (P_5) enthielt ebenfalls Pepsin und Hämopoietin. Das Alkoholfiltrat (B_5) war bei Perniciosa-Kranken wirksam, die Fraktion P_5 wurde anschließend in n/10 Salzsäure gelöst, nach Hinzusetzen von Aceton wurde das Hämopoietin inaktiviert, ohne daß die peptische Wirkung dabei stark beeinträchtigt wurde (P_5A). Um den endogenen Faktor und das Pepsin zu trennen, wurde die n/10 Salzsäure von P_5 durch n-Natronlauge bis zu pH 4,2 neutralisiert. Der dabei entstandene Niederschlag enthielt Pepsin (P_5I), aber kein Hämopoietin. Wurde nun das Filtrat durch nochmaligen Zusatz von Natronlauge auf

pH 6,2 gebracht und mit 92 %igem Alkohol gefällt, so blieb eine Fraktion P_5II übrig, die nur Hämopoietin, aber kein Pepsin mehr enthielt. Das folgende Schema soll über den Ablauf der Fraktionierung orientieren:



(aus Singer, Ergebnisse d. inn. Mediz. u. Kinderheilkunde).

Das Hämopoietin ist sehr empfindlich gegen Erhitzen, Temperaturen über 45 Grad inaktivieren es sofort, auch durch lange Einwirkung von Pepsin und Trypsin wird es angegriffen. Wilkinson und Klein schlossen daraus, daß das Hämopoietin eine organische Substanz und wahrscheinlich ein Protein sein dürfte. Diesem Stoff werden Enzym-Eigenschaften zugesprochen, denn durch die Einwirkung auf den nichteiweißartigen, thermostabilen extrinsic Faktor entsteht im Organismus jene Aminobase, deren biologische Funktion in dieser Arbeit eingehend behandelt wurde.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß die chemische Reindarstellung des Perniciosa-Schutzstoffes noch nicht gelungen ist, erst diese Tatsache wird über seine Wirkung im einzelnen Aufklärung bringen. So sprach man im Zusammenhang mit den Störungen des Zentralnervensystems bei perniciöser Anämie auch von einem antimyelitischen Prinzip. Doch bleiben all diese Erwägungen vorerst Hypothese. In dieser Arbeit wurde lediglich versucht, all die um den Perniciosa-Schutzstoff angestellten Theorien und Versuchsergebnisse in kurzer Form zusammenzustellen. Dabei sieht man heute im Perniciosa-Schutzstoff einen Reifungsstoff, der die bei der Perniciosa auftretenden pathologischen Blutbildveränderungen zur Norm zurückführt. Seit Castle's Entdeckungen von der Wirkungssteigerung der Leber durch Magen-

saftverdauung ist bewiesen, daß außer dem Reifungsstoff noch andere Faktoren eine Rolle spielen, das Zusammenarbeiten des extrinsic und intrinsic Faktors zum antianämischen Prinzip ist nötig, um die therapeutischen Erfolge zu erzielen, wie wir sie bei Behandlung der perniciösen Anämie heute erfahren.

Vor kurzem hat L. Karczak Ergebnisse über Anwendung der spektrographischen Methode im Ultraviolett veröffentlicht. Er versuchte aus den physikalisch optischen Eigenschaften über Körpersäfte von unbekannter chemischer Zusammensetzung und Konstitution mittels Beobachtung ihres Absorptionsvermögens Aufschluß zu erhalten. So wurden Speichel, Magensaft, Duodenalsaft, Blut usw. spektrographisch sowohl von Gesunden wie Kranken untersucht. Dabei vergaß er nicht die spectralen Eigenschaften der hämopoetischen Körpersäfte in Bezug auf den antiperniciösen Leberstoff, den Castle'schen intrinsic Faktor und auch den Vitamin B Komplex zu beobachten.

Im Rahmen dieser Arbeit liegt es aber nicht, hier Einzelheiten anzuführen, es soll nur gezeigt werden, welch große, unerschöpfliche Möglichkeiten es gibt, um endgültig die Probleme um die Perniciosa-Schutzstoff-Wirkung zu lösen.

Abschließend ist demnach aus der bearbeiteten Literatur festzustellen, daß die Wirkung des Perniciosa-Schutzstoffes auf 2 Faktoren beruht:

1. Auf dem von außen durch die Nahrung zugeführten extrinsic Faktor;
2. auf dem in normalem Magensaft enthaltenen intrinsic Faktor.

Chemisch wird der Perniciosa-Schutzstoff nach den Untersuchungen Cohn's und Minot's als eine secundäre und tertiäre Amine aufweisende Base angesehen, seine Konstitution festzulegen ist noch nicht gelungen.

Diese Erkenntnisse haben die Erfolge der Therapie der perniciösen Anämie geschaffen, die heute unter normalen Verhältnissen jedem Perniciosa-Kranken, der früher einer hoffnungslosen ärztlichen Behandlung preisgegeben war, zukommen.

NB. Zum Schluß möchte ich Herrn Prof. Dr. Hahn vom physiologischen Institut der Universität München für die freundliche Überlassung der Arbeit und seine ratvollen Vorschläge bei ihrer Anfertigung und Durchsicht bestens danken.

Literatur.

1. Aschford, Klein u. Wilkinson: Biochem. Journal 30 (1936)
2. Castle: Americ. Journal medic. Science 178 (1929)
3. L. Karczak: Verdauungssäfte und Blutbildung
4. Minot und Murphy: Journal Americ. Associat. 87 (1926)
5. Rominger und Bomskow: 2. gesamte experimentielle Med. 89 (1933)
6. Reimann und Weil: Zeitschr. Klin. Medizin 126 (1934)
7. Reimann und Wabra: Zeitschr. Klin. Medizin 128 (1935)
8. Reimann und Fritsch: Zeitschr. Klin. Medizin 126 (1934)
9. Singer Karl: Klinische Wochenschrift 14 (1935)
10. Singer Karl: Ergebnisse der inneren Medizin und Kinderheilkunde 47 (1934)
11. Singer und Wechsler: Klinische Wochenschrift 15 (1935)
12. Wolf und Tschesche: 2. physiologische Chemie (1937)

Lebenslauf.

Ich, Franz Groll, bin am 29. Mai 1912 als Sohn des Lehrers Franz Groll und meiner Mutter Johanna Groll, geb. Brams, in Kleinphilippsreut, Ndby. (Bez. Wolfstein), geboren. Nach dem Besuch der ersten Volksschulklassen kam ich 1922 an das Humanistische Gymnasium in Landshut, von wo ich nach 6 Klassen an das Humanistische Gymnasium in Passau übertrat. Dort legte ich im April 1932 meine Reifeprüfung ab. Anschließend immatrikulierte ich mich im Sommer-Semester 1932 an der mediz. Fakultät in München, wo ich meine ganze Studienzeit verbrachte. Nach Ablegung meiner ärztlichen Vorprüfung und Beendigung des med. Staatsexamens am 3. Febr. 1939 arbeitete ich als Medizinal-Praktikant und Vol.-Assistent an verschiedenen Münchener Kliniken. Am 21. Sept. 1939 erhielt ich meine ärztliche Approbation.

Franz Groll.

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit!